STUDII CLINICE

BIODISPONIBILITATEA OXIDULUI NITRIC ÎN VASOSPASMUL CEREBRAL ASOCIAT HEMORAGIEI SUBARAHNOIDIENE

A. Bulboacă, Adriana Bulboacă
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Iuliu Haţieganu“, Cluj-Napoca

Rezumat

Introducere şi obiective: vasospasmul cerebral rămâne o complicaţie redutabilă a hemoragiei subarahnoidiene (HS). Obiectivul acestui studiu a fost de a determina concentraţia plasmatică în dinamică a oxidului nitric (NO) la pacienţi cu hemoragie cerebrală în scopul decelării participării biodisponibilităţii acestuia la apariţia vasospasmului cerebral consecutiv HS.

Pacienţi şi metode: au fost luaţi în studiu 17 pacienţi cu HS care a fost evaluată clinic şi prin examinare RMN. Vasospasmul cerebral simptomatic a fost evaluat clinic prin decelarea instalării unui deficit hemicorporal în cursul evoluţiei HS. Pentru toţi pacienţii s-au determinat metaboliţii NO (NOx) la intervale variate de timp de la instalarea simptomatologiei caracteristice HS: T1 (3-5 zile), T2 (5-7 zile), T3 (10-12 zile).

Rezultate: la T1 concentraţia plasmatică a NOx nu a fost diferită semnificativ de a unui grup de control. La T2 şi T3 concentraţia plasmatică a NOx a fost scăzută semnificativ la pacienţii cu vasospasm cerebral simptomatic faţă de valorile de la T1 la acelaşi grup de pacienţi.

Concluzii: aceste rezultate sugerează că o scădere a biodisponibilităţii NO este asociată cu vasospasmul cerebral consecutiv HS. Terapia cu precursori de NO (L-arginină) poate fi utilă acestor pacienţi.

Abstract

Background and objectives: cerebral vasospasm remains a severe complication of subarachnoid hemorrhage. The objective of this study was to determinate the nitric oxide (NO) plasma concentration dynamic in the patients with subarachnoid hemorrhage (SH) for evaluation of NO biodisponibility in cerebral vasospasm onset.

Patients and methods: 17 patients with SH were taken in study. SH was evaluated clinicaly and by cranial RMN. Simptomatic cerebral vasospasm was clinical evaluated by onset of hemicorporeal motor deficiency. For all the patients NO metabolities (NOx) in plasma was measured in various time intervals from onset of SH symptoms T1 (1-3 days), T2 (5-7 days), T3 (10-12 days).

Results: in T1, plasma NOx concentration at patients with SH was compared with control group. There were no significant differences between groups. Plasma levels of NOx (T1 and T2) were significantly decreased at patients with simptomatic cerebral vasospasm comparative with T1 levels in same group of pacients.

Conclusions: these results suggest that the decrease of the NO biodisponibility is associated with cerebral vasospasm in patients with SH. Therapy with NO precursors (L-arginine) may be useful in this group of patients.

INTRODUCERE

Apariţia vasospasmului după hemoragia subarahnoidiană (HS) este una din complicaţiile cele mai severe, aproximativ 40% din pacienţi decedând în primele 30 de zile în ciuda eforturilor terapeutice (1). După unii autori incidenţa vasospasmului (evidenţiabil angiografic) consecutiv HS este mai mare de 50%, vasospasmul simptomatic apărând la aproximativ 30% din pacienţi (2).

Datorită ratei ridicate a mortalităţii, se fac eforturi considerabile pentru cercetarea mecanismelor patogenetice ale vasospasmului consecutiv HS. Vasospasmul prelungit are caractere morfologice bine definite: distrofia şi descuamarea celulelor endoteliale vasculare, necroza celulelor musculare netede, creşterea sintezei de colagen la nivelul mediei, alterarea laminei elastice şi prezenţa unui răspuns inflamator adventiceal. Toate modificările histopatologice de mai sus sunt asociate cu modificarea reactivităţii peretelui vascular la stimuli vasoconstrictori şi vasodilatatori (3). Alături de prezenţa disfuncţiei peretelui vascular, o varietate de substanţe au fost considerate a fi implicate în geneza vasospasmului consecutiv HC: serotonina, oxidul nitric, anionul superoxid, endotelinele, hemoglobina, oxihemoglobina, catecolaminele (4-7).

Oxidul nitric (NO) este implicat în vasodilataţia dependentă de endoteliu la nivelul vaselor cerebrale. Tonusul vascular cerebral necesită o sinteză şi eliberare continue de NO la nivelul celulelor endoteliale. Reducerea sintezei NO poate juca un rol important în alterarea fenomenului de autoreglare a circulaţiei cerebrale (8). Deoarece orice

perturbare a sintezei de NO poate duce la ruperea echilibrului factorilor vasodilatatori şi vasoconstrictori care concură la menţinerea tonusului vascular cerebral, nivelul concentraţiei acesteia după hemoragia subarahnoidiană poate fi relevant pentru patogeneza vasospasmului asociat.

OBIECTIV

Obiectivul lucrării a fost de evaluare a concentraţiei plasmatice a metaboliţilor oxidului nitric (NOx), în dinamică, la pacienţi cu hemoragie subarahnoidiană pentru stabilirea unei eventuale implicări a acestuia în vasospasmul cerebral consecutiv.

PACIENŢI ŞI METODE

S-au luat în studiu 17 pacienţi cu hemoragie subarahnoidiană confirmată prin examinare RMN craniană. Am apelat la acest tip de examinare pentru evaluarea cât mai precisă a modificărilor intracraniene (prezenţa sângelui, reacţii din partea parenchimului cerebral, prezenţa unor anevrisme sau malformaţii arterio-venoase intracraniene). Nici un pacient selectat pentru studiu nu a prezentat afecţiuni cardiovasculare (cardiopatie ischemică, HTA, insuficienţă cardiacă), diabet zaharat sau insuficienţă renală cronică. Excluderea unei tulburări a hemostazei s-a făcut prin examinările: timp de sângerare, număr de plachete, fibrinogen, timp de coagulare, timp Howell, timp de protrombină, timp de liză a cheagului din euglobuline. Toate aceste examinări au fost normale. Pentru excluderea unei afecţiuni inflamatorii s-au determinat următorii parametri: IgG, IgM, C3, complexe imune circulante, proteina C reactivă, VDRL şi IDR la tuberculină. La toţi pacienţii au fost în limite normale.

Examinarea clinică neurologică s-a făcut la internare şi apoi periodic, la interval de 6 ore. Internarea s-a făcut într-un interval de 2-48 ore de la debutul simptomatologiei. Prezenţa hemoragiei subarahnoidiene a fost confirmată RMN. Intensitatea HS a fost evaluată prin RMN după sistemul propus de Fischer şi col. (9): gradul 1; gradul 2; gradul 3; gradul 4. La pacienţii la care nu s-au decelat anevrisme sau malformaţii arterio-venoase intracraniene pe RMN s-a făcut arteriografie cerebrală. Apariţia vasospasmului a fost evaluată clinic prin instalarea unui deficit motor hemicorporal (vasospasm cerebral simptomatic – VCS). În cursul internării 7 pacienţi au prezentat VCS, instalat la un interval de 3-6 zile de la debutul simptomatologiei caracteristice pentru HS. La aceştia s-a confirmat prezenţa unei leziuni de infarct cerebral prin examen RMN. Toţi pacienţii au primit următorul tratament: preparate antifibrinolitice, Nimodipină – 60 mg/24 h (sub supravegherea strictă a tensiunii arteriale, pentru a evita hipotensiunea arterială care poate genera scăderea debitului sanguin cerebral).

Evaluarea concentraţiei plasmatice a NO s-a făcut prin determinarea metaboliţilor săi stabili (nitriţi şi nitraţi). Evaluarea metaboliţilor NO (NOx) s-a făcut prin metoda spectrofotometrică (10). Dozarea NOx s-a făcut la 3 intervale de timp de la debutul simptomatologiei: T1 (1-3 zile), T2 (5-7 zile), T3 (10-12 zile).

Analiza statistică a datelor s-a făcut cu testul t Student. Toate valorile din tabele sunt exprimate ca şi M±SEM. Valorile concentraţiei plasmatice ale NO la internare au fost comparate cu ale unui lot martor. Valorile concentraţiei NO la T2 şi T3 au fost comparate cu cele de la T1. Diferenţele au fost considerate statistic semnificative la $p < 0,05$.

REZULTATE

Caracteristicile pacienţilor la internare sunt redate în tabelul 1.

Evaluarea gradului HS prin examinare RMN a dus la următoarele rezultate (tabelul 2).

Valorile concentraţiei plasmatice a NOx la T1 (internare), T2 (interval de 1-3 zile de la debutul simptomatologiei) şi T3 (interval de 10-12 zile de la debutul simptomatologiei) sunt redate în tabelul 3.

Atât la pacienţii cu vasospasm cerebral simptomatic (instalat la interval de 0-6 zile de la debutul simptomatologiei) cât şi la cei fără vasospasm cerebral simptomatic nu au existat diferenţe semnificative ale concentraţiei NOx, faţă de grupul de control, la T1. La grupul cu vasospasm cerebral simptomatic la T2 şi T3 s-au înregistrat diferenţe statistic semnificative ($p<0,001$) faţă de valorile concentraţiei NOx la T1 (la acelaşi grup). La grupul fără vasospasm cerebral simptomatic valorile concentraţiei

Tabelul 1

Valorile principalilor parametri examinaţi la internare la pacienţii cu HS comparativ cu un lot martor (fără diferenţe semnificative între cele două grupuri).

Parametru	Grup de control	Grup cu HS
Număr subiecţi	12	17
Vârsta (ani)	43, 5 ± 5,35	49,35 ± 7,7
Sex (bărbaţi/femei)	7 /5	11 / 6
Tensiune arterială sistolică (mmHg)	119,75 ± 19,6	120,78 ± 23,9
Tensiune arterială diastolică (mmHg)	82,73 ± 10.72	85,54 ± 9,65
Glicemie bazală (mg%)	89,75 ± 7,25	87, 45 ± 6,73
Hb A_{1c} (%)	4,95 ± 0,72	5,21 ± 0,91
Număr de leucocite ($x10^3/mm^3$)	5,4 ± 0,47	6,8 ± 0,6
Fibrinogen (mg /dL)	210, 74 ± 22,7	225,9 ± 19,75
Proteina C reactivă (mg/dL)	1,32 ± 0,27	1,21 ± 0,22
Gama-GT (U/L)	20, 15 ± 5,35	24, 64 ± 7,43
Fumători/nefumători	8/4	12/5

Tabelul 2
Evaluarea RMN a gradului hemoragiei subarahnoidiene.

Gradul	Număr pacienţi
Gradul 1 (fără modificări imagistice)	0
Gradul 2 (HS difuză cu grosimea stratului vertical < 1 mm)	9
Gradul 3 (HS localizată la nivel cisternal sau HS cu grosimea stratului vertical > 1 mm)	6
Gradul 4 (hemoragie intraventriculară sau intracerebrală)	2

Tabelul 3
Concentraţia plasmatică a NOx la pacienţii cu HS la T1, T2 şi T3.

Grupul examinat	Concentraţia plasmatică a NOx (microM/L)		
	T1	T2	T3
Grup de control (N = 12)	37,74 ± 5,54	–	–
Pacienţi fără vasospasm cerebral simptomatic (N = 7)	34, 87 ± 7,53	30,23 ± 4,45	32, 41 ± 5,87
Pacienţi cu vasospasm cerebral simptomatic (N = 10)	35,23 ± 4,21	24,76 ± 4,45*	26, 29 ± 5,54*

* p < 0,001

NOx au scăzut la T2 şi T3 dar fără să prezinte diferenţe statistic semnificative faţă de T1. Nu s-au înregistrat corelaţii între nivelul concentraţiei plasmatice a NOx şi gravitatea HS evaluată prin RMN.

Rezultatele examinării prin arteriografie cerebrală (7 pacienţi examinaţi) – 5 pacienţi cu anevrism intracranian; 2 cazuri cu etiologie necunoscută (arteriografie cerebrală negativă).

DISCUŢII

Apariţia vasospasmului cerebral simptomatic, consecutiv HS, la grupul nostru de studiu, la interval de 3-7 zile de la debutul simptomatologiei caracteristice HS este confirmată şi de alţi autori, cu menţionarea unui interval de 4-6 zile de la debutul simptomatologiei (11,12) sau 6-8 zile (13). Concentraţia scăzută a NOx la intervalele 5-7 zile (T3) şi 10-12 zile (T3) de la debutul simptomatologiei (caracteristică pentru HS) este superpozabilă peste intervalul de instalare a deficitului motor la pacienţii cu VCS. Această superpozabilitate temporală demonstrează că diminuarea concentraţiei plasmatice a NOx contribuie parţial la instalarea vasospasmului cerebral consecutiv HS. Scăderea uşoară a concentraţiei plasmatice a NOx la pacienţii cu HS dar fără VCS demonstrează că cel puţin o parte din aceşti pacienţi au prezentat un vasospasm cerebral, dar fără manifestări clinice. Studiile angiografice (cu evaluarea diametrului vaselor cerebrale) au demonstrat că apariţia vasospasmului cerebral cu simptomatologie clinică reprezintă aproximativ 50% din totalul pacienţilor care au prezentat vasospasm cerebral consecutiv HS (13). Evaluările vasospasmului cerebral prin ultrasonografie Doppler transcraniană detectează apariţia vasospasmului cerebral simptomatic la 53% din totalul pacienţilor cu vasospasm consecutiv HS (14).

Persistenţa unor valori scăzute la T3 faţă de T1 la pacienţii cu VCS demonstrează durata prelungită a vasospasmului cerebral, precum şi rezistenţa lui la tratamentul cu blocanţi ai canalelor de calciu (Nimodipina). Există autori care demonstrează existenţa unei stimulări simpatice prelungite, superpozabilă peste durata vasospasmului cerebral. Astfel, Naradi şi col, au constatat după HS o creştere a concentraţiei sanguine a norepinefrinei care atinge un maxim la 7-10 zile de la debutul simptomatologiei HS, cu o diminuare după 14 zile şi revenirea la valorile normale după 6 luni (15). Creşterea catecolaminelor circulante este considerată ca şi un răspuns simpatic prelungit la ischemia locală, în particular la hipoxie (16). Norepinefrina determină o vasoconstricţie la nivelul arterelor cerebrale prin activarea canalelor membranale de calciu (17).

Pe de altă parte, produşii de hemoliză sunt consideraţi ca şi participanţi la iniţierea şi menţinerea vasospasmului cerebral, fiind demonstrat efectul lor de creştere a concentraţiei intracelulare de calciu la nivelul celulelor musculare netede vasculare (18). Adiţional, hemoglobina este capabilă să ducă la formarea de specii reactive ale oxigenului (prin autooxidare) cum sunt anionul superoxid, peroxidul de hidrogen, sau radicalul hidroxil care distruge NO (19,20). Studiile experimentale au arătat că scăderea biodisponibilităţii NO poate duce la scăderea activităţii guanilatciclazei, ceea ce determină reducerea generării cGMP la nivelul celulelor musculare netede vasculare. Scăderea nivelului de cGMP este responsabilă pentru închiderea canalelor de K^+ la nivelul celulelor musculare netede ale vaselor cerebrale, depolarizarea membranală şi contracţia acestora (21). Pe de altă parte, creşterea intracelulară a concentraţiei Ca^{2+} este asociată cu vasospasmul consecutiv HS, scăderea concentraţiei plasmatice a NO facilitând acest fenomen (22-24). Scăderea concentraţiei plasmatice a NO este asociată cu blocarea canalelor membranale de potasiu şi facilitarea vasoconstricţiei (25). Peroxinitritul (rezultat în urma reacţiei dintre NO şi anionul superoxid) determină creşterea influxului de calciu şi facilitarea vasoconstricţiei (26, 27). Deoarece s-a demonstrat prezenţa unor concentraţii crescute de anioni superoxid la pacienţii cu vasospasm asociat hemoragiei subarahnoidiene (5), este posibil ca acest compus, prin reacţia de formare a peroxinitritului să ducă la scăderea concentraţiei de NO.

În cadrul mecanismelor patogenetice care contribuie la apariţia vasospasmului cerebral asociat HS un loc important îl ocupă fumatul. S-a demonstrat că fumatul poate altera efectul vasodilatator al NO. Este asociat de asemenea cu activarea crescută a canalelor membranale de calciu şi diminuarea activităţii canalelor membranale pentru potasiu (facilitând vasoconstricţia) (28). Acest

aspect trebuie luat în considerare şi la lotul nostru de studiu, numărul pacienţilor fumători fiind dominant.

CONCLUZII

Scăderea concentraţiei plasmatice a NO în cursul HS este precoce (începând cu primele 24 ore de la instalarea simptomatologiei) şi durează cel puţin 10-12 zile. Apariţia vasospasmului cerebral consecutiv HS pe fondul scăderii biodisponibilităţii NO semnifică importanţa diminuării vasodilataţiei dependente de endoteliu pentru mecanismele de iniţiere şi întreţinere a vasospasmului. În aceste condiţii, terapia cu precursori de NO cum este L-arginina ar putea fi de un real folos.

BIBLIOGRAFIE

1. **Kissela BM, Sauerbeck L, Woo D şi col** – Subarachnoidian hemorrhage: a prevetable disease with a heritable component, *Stroke*, 2002, 33: 1321-6
2. **Woo D, Broderick JB** – Spontaneous intracerebral hemorrhage: epidemiology and clinical presentation, *Neurosurg Clin N Am*, 2002, 13: 265-79.
3. **Zhang A, Lewis D, Bernanke A şi col** – Stroke: anatomy of catastrophyc event, *Anat Rec*, 1998, 253: 58-63.
4. **Lobato RD, Marin J, Salaices M şi col** – Cerebrovascular reactivity to noradrenaline and serotonin following experimental subarachnoidian hemorrhage, *J Neurosurg*, 1980, 53: 480-85.
5. **Mori T, Nagata K, Town T şi col** – Intracisternal increase of superoxide anion production in a canine subarachnoid hemorrhage model, *Stroke*, 2001, 32: 636-46.
6. **Cosentino F, Yvonimir SK** – Does endothelin-1 play a role in the pathogenesis of cerebral vasospasm, *Stroke*, 1994, 25: 904-908.
7. **Linnik MD, Lee TJ** – Effects of hemoglobin on sympathetic neurovascular transmission in the porcine cerebral circulation, *J Cardiovascular Pharmacol*, 1993, 21: 615-20.
8. **White RP, Vallance P, Markus H şi col** – Effect of inhibition of nitric oxid synthase on dynamic cerebral autoregulation on humans, *Clin Sci*, 2000, 99: 555-60.
9. **Fischer CM, Kistler JP, Davis JM** – Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualised by computerized tomographic scanning, *Neurosurgery*, 1980, 6: 1-9.
10. **Miranda KM, Espey M, Wink D** – A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite, Nitric Oxide: *Biol and Chem*, 2001, 5: 62-71.
11. **Dorch NW** – Cerebral arterial spasm – a clinical review, *Br J Neurosurg*, 1995, 9: 403-412.
12. **Pasqualin A** – Epidemiology and pathophysiology of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage, *J Neurosurg Sci*, 1998, 48: 15-21.
13. **Mascia L, Fedorko L, Steward DJ şi col** – Temporal relationship between endothelin concentration and cerebral vasospasm in patients with anevrysmal subarachnoid hemorrhage, *Stroke*, 2001, 32: 1185-94.
14. **Sviri GE, Feinsod M, Sonstiel JF** – Brain natriuretic peptide and cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage, *Stroke*, 2000, 31: 118-26.
15. **Naradi S, Lambert G, Eden E şi col** – Increased symphatetic nervous activity in patients with nontraumatic subarachnoid hemorrhage, *Stroke*, 2000, 31: 901- 911.
16. **Sun MK, Reis DJ** – Hypoxia selectively excites vasomotor neurons of rostral ventrolateral medulla in rats, *Am J Physiol*, 1994, 266: R245-R256.
17. **Nelson MT, Staden JE, Bryden JF şi col** – Noradrenaline contracts arteries by activating voltage-dependent calcium channels, *Nature*, 1998, 336: 382-85.
18. **Zhang H, Weir RL, MacDonald LS şi col** – Mechanisms of Ca2+ elevation induced by erytrocyte components in endothelial cells, *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, 277: 1501-1503.
19. **MacDonald LS, Weir BK** – A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm, *Stroke*, 1991, 22: 971-82.
20. **Janjua N, Mayer SA** – Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage, *Curr Opin Crit Care*, 2003, 9: 113-9.
21. **Sobey CG, Faraci FM** – Effects of a novel inhibitor of guanylyl cyclase on dilatator response of mouse cerebral arterioles, *Stroke*, 1997, 28: 837-42.
22. **Kawanabe Y, Masaki T, Hashimoto N** – Effects of Ca++ permeable nonselective cation channel blocker LOE 908 on subarachnoid hemorrhage-induced vasospasm in the basilar artery in rabbits, *J Neurosurg*, 2003, 98: 561-4.
23. **Kim P, Yoshimoto Y, Iino M şi col** – Impaired calcium regulation of smooth muscle during chronic vasospasm following subarachnoid hemorrhage, *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996, 16: 334-341.
24. **Chen J, Daggett H, De Waard M şi col** – Nitric oxide auguments voltage-gated P/Q Ca2+ channels constituing a putative positive feedback loop, *Free Radic Biol Med*, 2002, 32: 638-49.
25. **Tanaka Y, Igarashi T, Kanedo H şi col** – NO-mediated MaxiK (Ca) channel activation produces relaxation of guinea pig aorta independently of voltage-dependent L-type Ca2+ channels, *Gen Pharmacol*, 2000, 43: 159-65.
26. **Ohkuma S, Katsura M, Higo A şi col** – Peroxynitrite affects Ca2+ influx through voltage-dependent calcium channels, *J Neurochem*, 2001, 76: 341-50.
27. **Armstead WM** – Protein kinase C activation superoxide and contributes to impairement of cerebrovasodilatation induced by G protein activation after brain injury, *Brain Res*, 2003, 971: 153-160.
28. **Gerzanich V, Zhang F, West GA şi col** – Chronic nicotine alters NO signaling of Ca2+ channels in cerebral arterioles, *Circ Res*, 2001, 88: 359-65.